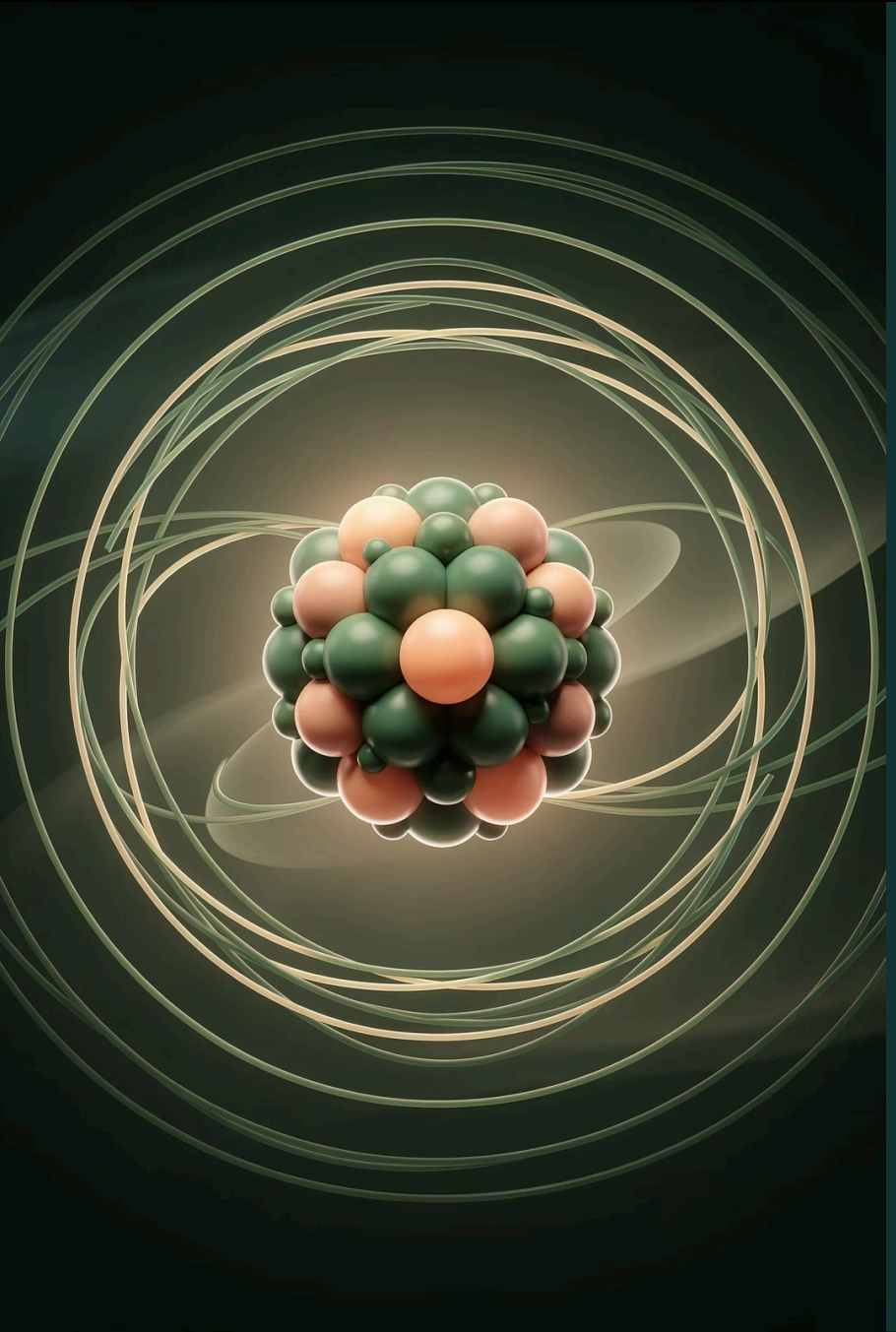


Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi

Mekanistik Prensipler, Kantitatif Hassasiyet ve Ontolojik Tahlil

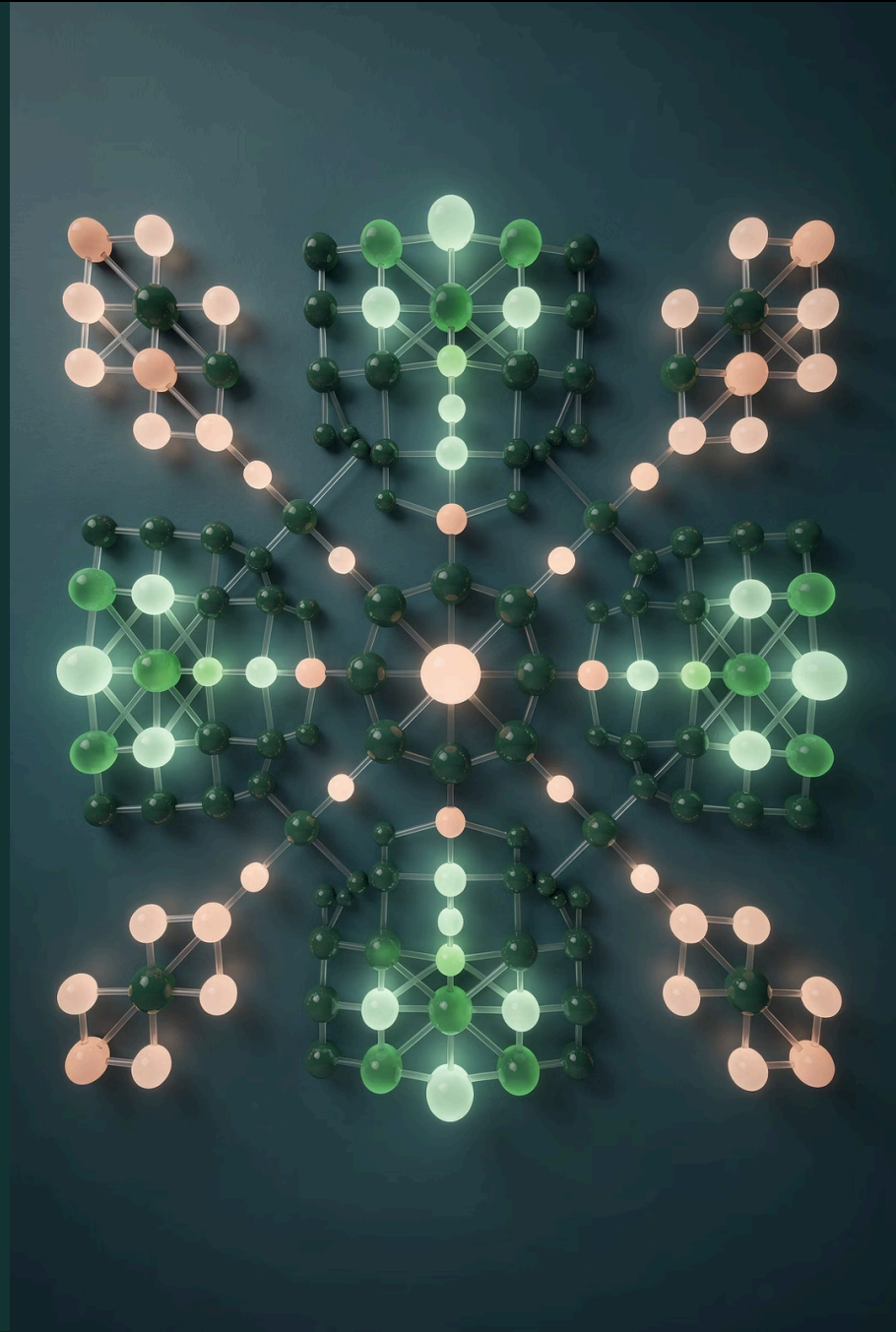
DERS SUNUMU | TERADİGMA

Maddenin "Kimlik Kartı": ^{1}H NMR Nedir?

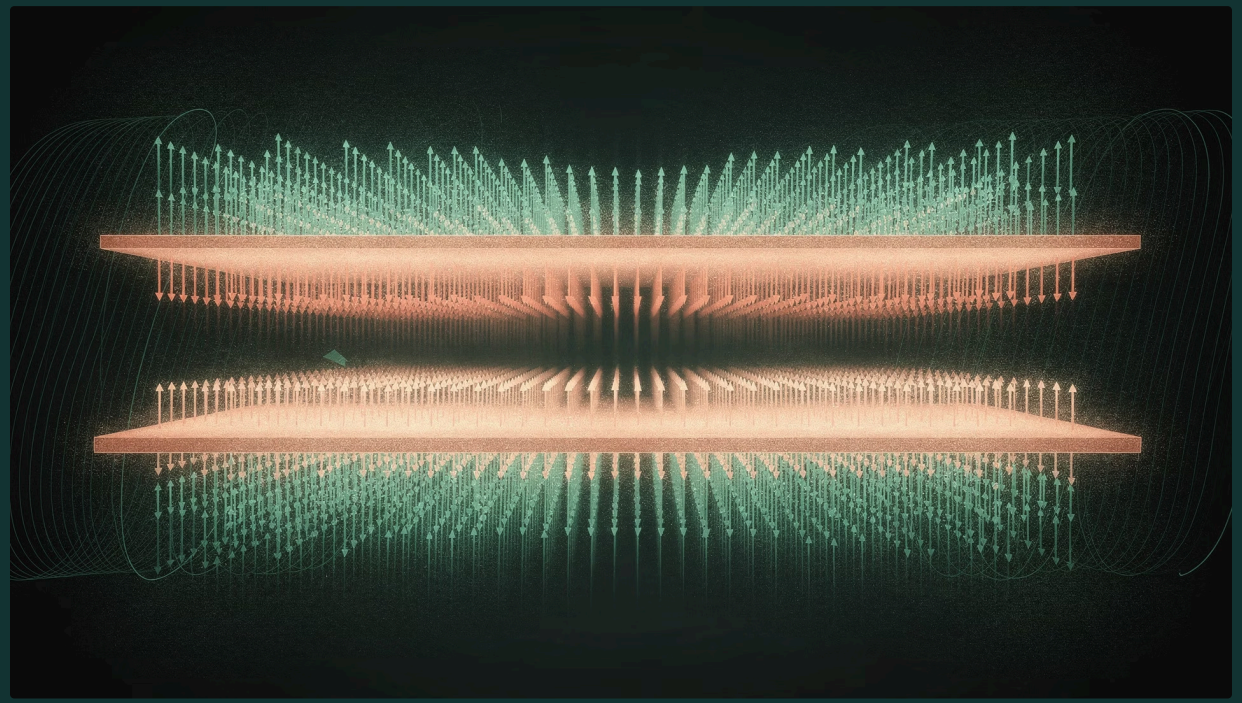
Proton Nükleer Manyetik Rezonans (^{1}H NMR) spektroskopisi, hidrojen çekirdeğinin manyetik özelliklerinden yararlanılarak moleküllerin üç boyutlu mimarisi, elektronik ortamı ve dinamik süreçlerinin okunmasına imkân tanıyan bir analitik tekniktir.

Numune güçlü ve homojen bir manyetik alan içine yerleştirilir, radyo frekans dalgalarıyla uyarılır; elde edilen spektrum incelenen maddenin kimlik kartını oluşturur.

> Spektrumdaki sinyaller, maddenin rastgele bir yığın olmadığını; son derece hassas fiziksel yasalarla yönetilen, belirli bir nizam ve geometriye sahip bir yapı olduğunu ortaya koyar.



Nükleer Spin ve Zeeman Yarılması



Proton (^1H çekirdeği), I = 1/2 spin kuantum sayısına sahiptir; bu özellik sayesinde bir manyetik moment (μ) üretecek biçimde konumlandırılmıştır.

Dış manyetik alan (B0) yokken trilyonlarca protonun manyetik momentleri dağınık yönelimlidir; toplam manyetizasyon sıfırdır. B0 uygulandığında bu dejenerasyon ortadan kalkar ve **Zeeman Yarılması** meydana gelir:

α (Alfa) Durumu

B0 ile aynı yönde hizalanmış, düşük enerjili kararlı durum

β (Beta) Durumu

B0'a ters yönde hizalanmış, yüksek enerjili durum

Rezonans Koşulu ve Larmor Frekansı

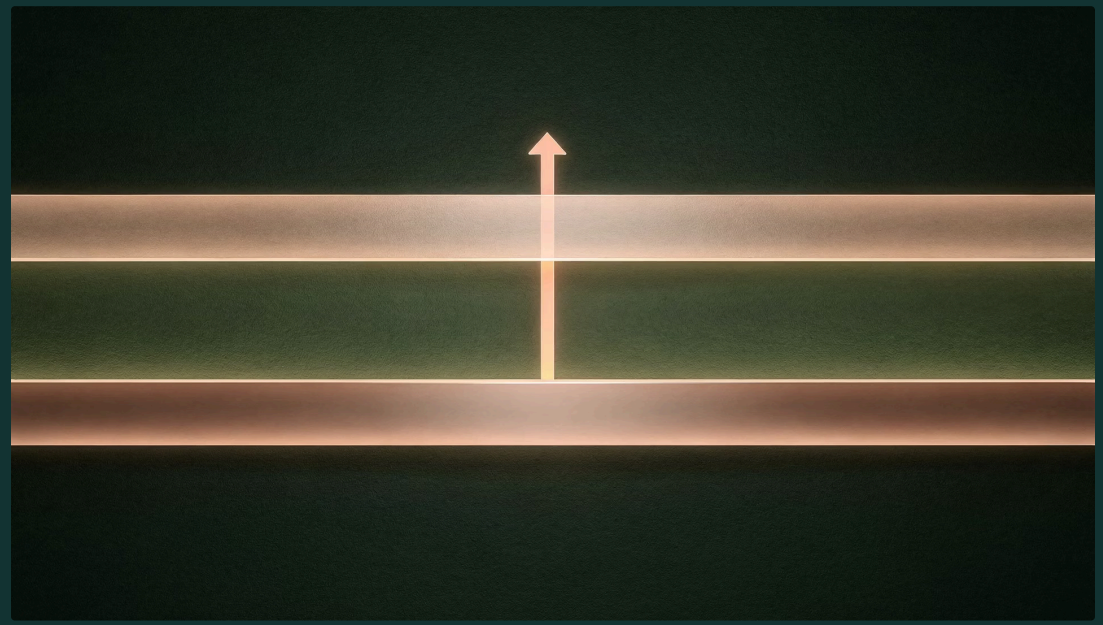
İki enerji seviyesi arasındaki fark şu bağıntıyla ifade edilir:

$$\Delta E = h\nu_0 = \frac{h\gamma B_0}{2\pi}$$

Burada h Planck sabiti, γ ise hidrojen çekirdeğine özgü değişmez bir fiziksel sabit olan giromanyetik orandır.

Sisteme tam olarak bu enerji farkına karşılık gelen frekansta (ν0, Larmor frekansı) radyo frekans radyasyonu uygulandığında rezonans gerçekleşir; fotonlar α durumundaki çekirdekler tarafından soğurularak α → β geçişini uyarır.

> Enerji farkının doğrudan manyetik alan şiddetine bağlı olarak hassas biçimde ayarlanmış olması, sistemin işlevsel bir plan dahilinde kurulduğunun göstergesidir.



Relaksasyon ve Fourier Dönüşümü

Uyarılma kesildiğinde çekirdekler aldıkları enerjiyi çevreye vererek termal denge durumuna dönerler; bu sürece **relaksasyon** adı verilir.

Sinyal Algılama

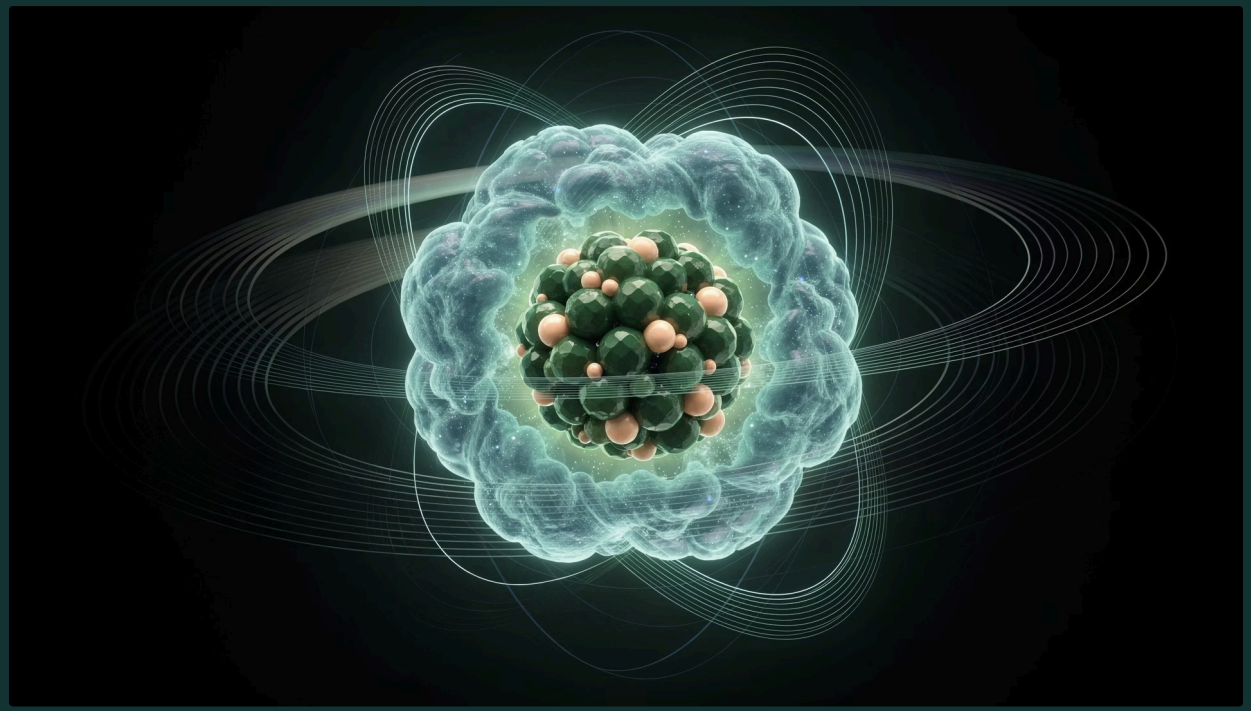
Dönüş sırasında yayılan sinyaller dedektörler tarafından algılanır

Fourier Dönüşümü (FT)

Zaman alanındaki sinyal (FID — Free Induction Decay) frekans alanına çevrilerek NMR spektrumu elde edilir

> Atom altı parçacıkların bu sürecin her aşamasında şaşmaz bir fiziksel yasa çerçevesinde hareket etmesi, rastlantının değil; konulmuş bir kanuniyetin tezahürüdür.

Kimyasal Kayma (δ): Elektronik Kalkanlama



Protonlar izole parçacıklar değil; elektron bulutlarıyla çevrili moleküler yapıların parçalarıdır. Elektronlar, B0 altında hareket ederek indüklenmiş bir karşı manyetik alan (Bind) oluştururlar.

Lenz Yasası gereği bu indüklenmiş alan dış alana zıt yöndedir; çekirdeğin hissettiği efektif alan azalır:

$$B_{eff} = B_0(1 - \sigma)$$

Güçlü Kalkanlama

Elektron yoğunluğu yüksekse → güçlü kalkanlama → düşük frekansta rezonans (upfield)

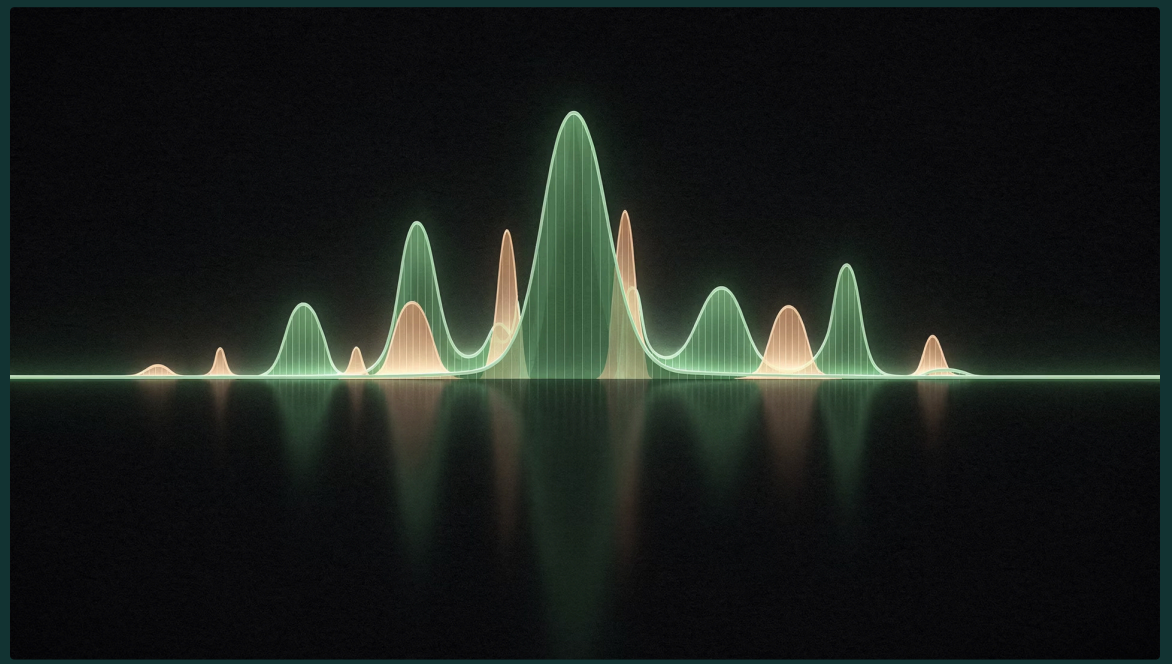
Zayıf Kalkanlama

Elektronegatif komşu atom varsa → kalkanlama zayıflar → yüksek frekansta rezonans (downfield)

Kimyasal Kayma Ölçeği: ppm ve TMS

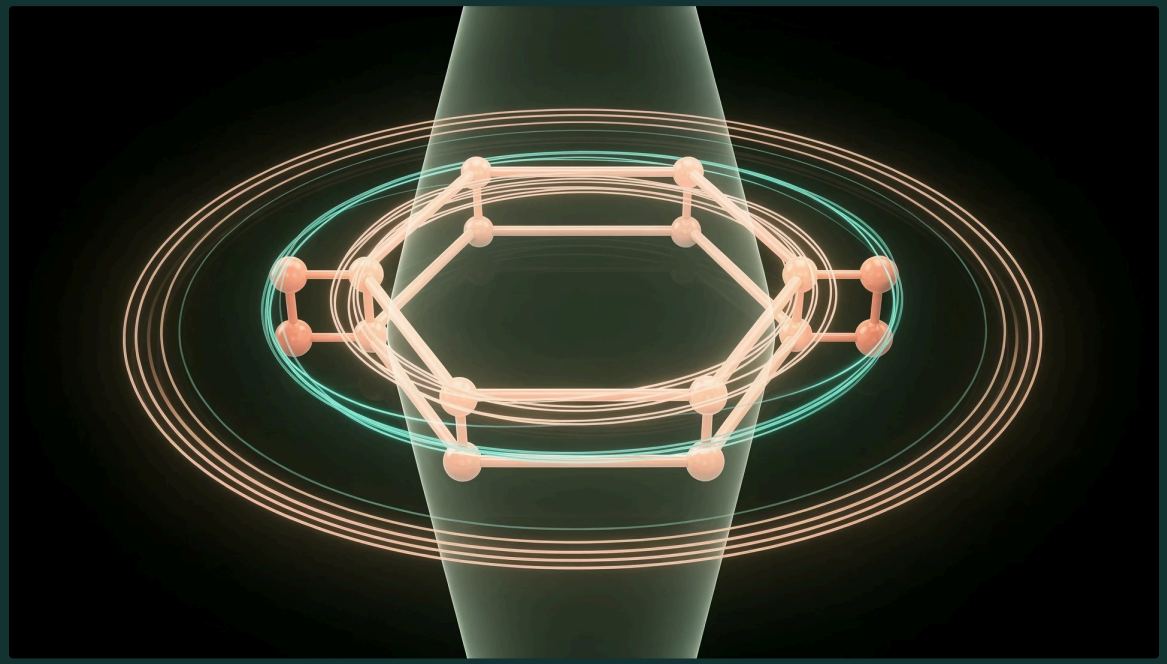
Frekans değişimleri, cihazın manyetik alan şiddetinden bağımsız olması için **kimyasal kayma (δ)** adı verilen birimsiz bir ölçekle ifade edilir; birimi ppm'dir (milyonda bir kısım).

- Referans bileşik olarak Tetrametilsilan (TMS) kullanılır; sinyali 0.00 ppm olarak tanımlanmıştır
- Her sinyalin konumu, o protonun molekül içindeki "adresini" ve komşularıyla ilişkisini bildirir



> Kimyasal kayma, bir molekülün elektronik haritasını çıkarır; ppm düzeyindeki bu hassasiyet, atomik dünyada hüküm süren nizamın ne denli ince ve kusursuz olduğunu gösterir.

Manyetik Anizotropi: Geometriden Doğan Manyetik Alan



π elektronları (aromatik halkalar, çift ve üçlü bağlar), B0 altında molekül içinde dairesel akımlar (**ring current**) oluşturur; bu akımlar uzayda yönelimsel manyetik alanlar indükler.

> Elektronların sadece birer yük yığını olmayıp moleküler geometriye göre son derece spesifik manyetik alanlar üretecek biçimde hareket ettirilmeleri, sisteme yerleştirilmiş hassas bir tasarımın ifadesidir.

Halka Düzlemi

B0'ı güçlendiren bir etki oluşur → halka protonları 6.5 - 8.5 ppm aralığına ötelenir (deshielding)

Halka Merkezi / Üstü

Kalkanlama konisi — dış alana zıt bir manyetik etkiye maruz kalır

Kimyasal Kayma Referans Tablosu

Proton Türü	Kimyasal Kayma (δ, ppm)	Etki Mekanizması
Metil (Alifatik)	0.8 – 1.2	Güçlü kalkanlama
Metilen (Alifatik)	1.2 – 1.5	Metile göre hafif deshielding
Allylik	1.6 – 2.0	Çift bağ komşuluğu
Alfa-Karbonil	2.1 – 2.5	Karbonil indüktif + anizotropik etki
Halojenli	3.0 – 4.5	Elektronegatif atomun etkisi
Vinilik (Alken)	4.5 – 6.5	sp^2 hibritleşmesi + π anizotropisi
Aromatik	6.5 – 8.5	Halka akımı deshielding
Aldehit	9.0 – 10.0	Karbonil anizotropisi + indüktif
Karboksilik Asit	10.5 – 12.0	Oksijen bağı + H bağı deshielding

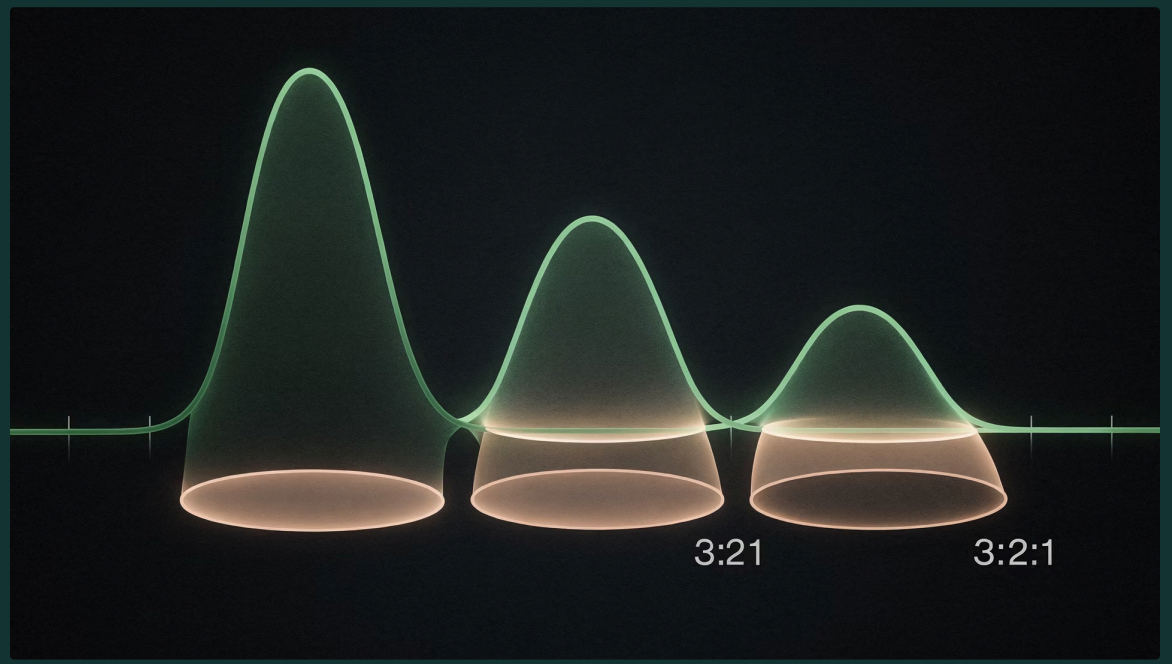
Entegrasyon: Stokiyometrik Sayım

NMR spektrumundaki bir sinyalin altında kalan alan (integral), o sinyali oluşturan çekirdeklerin sayısıyla doğru orantılıdır.

^{1}H NMR'da, belirli şartlar sağlandığında tüm protonlar aynı duyarlılıkla yanıt verir; bu durum onu UV-Vis gibi yöntemlerden ayırır.

- Etanol (CH3CH2OH) spektrumunda CH3 : CH2 : OH sinyal alanları 3 : 2 : 1 oranında ölçülür
- Karışımlardaki maddelerin molar oranları bu entegrasyon yoluyla belirlenir

> Bu matematiksel kesinlik, maddenin yapısında sayısal bir düzenin (nizamın) varlığını açıkça ortaya koyar.



Spin-Spin Yarılması (J-Eşleşmesi)

Sinyallerin tek bir çizgi yerine **multiplet** (ikili, üçlü, dörtlü vb.) halinde görülmesi, bir protonun manyetik durumunun bağ elektronları aracılığıyla komşu protonlara iletilmesiyle açıklanır.

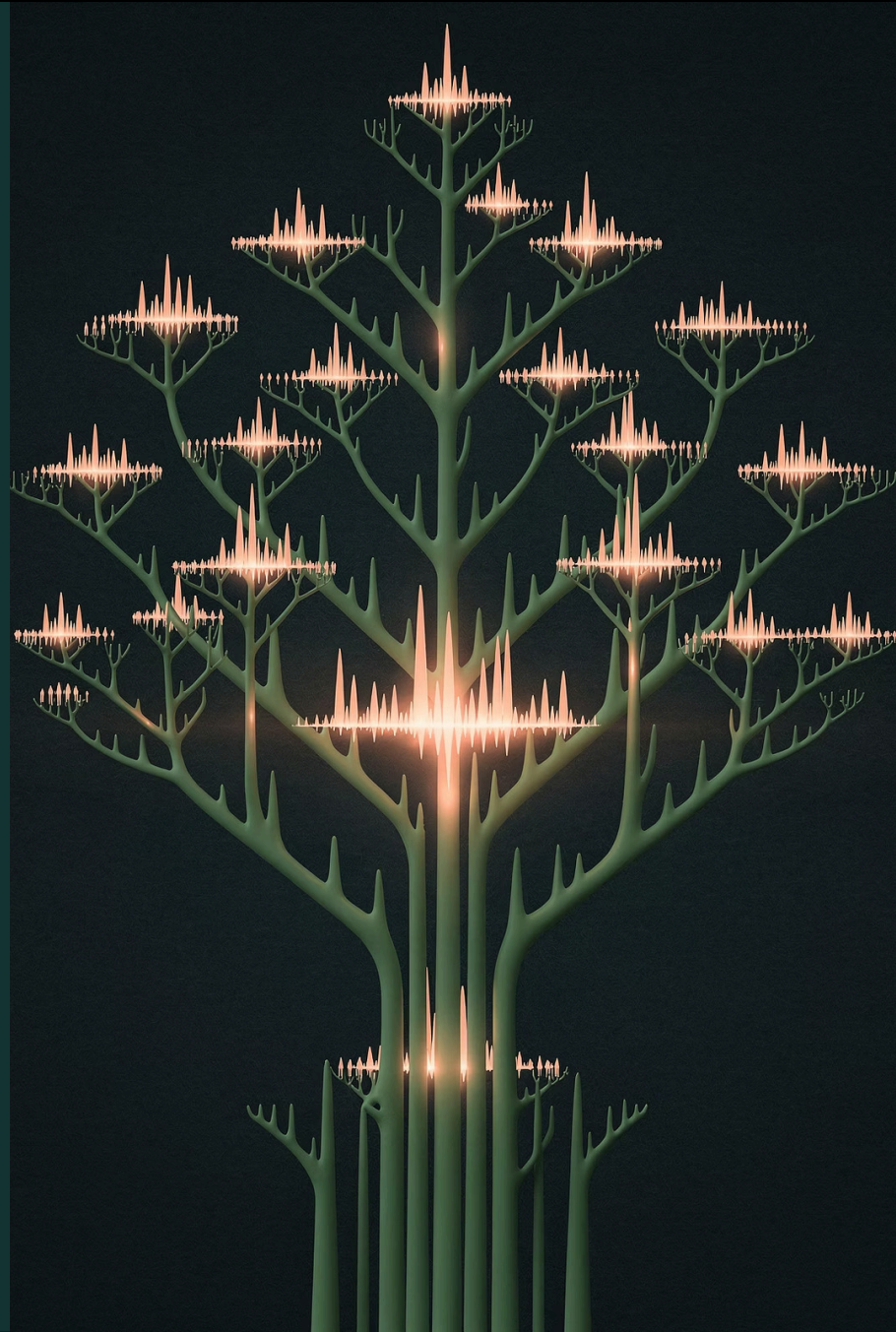
n+1 Kuralı

n adet eşdeğer komşusu olan bir protonun sinyali n+1 parçaya ayrılır

Örnek

CH2 grubu, komşu CH3 tarafından (n=3) etkilenerek dörtlü (quartet) sinyal verir

> Molekülün hiçbir parçasının diğerinden bağımsız olmadığı; bir uçtaki protonun durumunun bağlar zinciri üzerinden öteki uca iletildiği bu bağlantısallık, parçaların belirli bir bütünün amacı doğrultusunda tertip edildiğine işaret eder.



Eşleşme Sabiti (J): Konformasyonun Anahtarı

Yarılan pikler arasındaki mesafe Hertz (Hz) cinsinden ölçülür ve **Eşleşme Sabiti (J)** olarak adlandırılır.

- J değeri dış manyetik alan şiddetinden bağımsızdır; yalnızca molekülün iç yapısına, bağ uzunluklarına ve dihedral açıya bağlıdır
- **Karplus eşitliği**, J değerini kullanarak molekülün üç boyutlu konformasyonunun belirlenmesine olanak tanır

Etkileşim Türü	J Değeri (Hz)
Visinal genel	6 – 8
Vinilik cis	6 – 12
Vinilik trans	12 – 18
Aromatik orto	6 – 9
Aromatik meta	1 – 3

Kantitatif NMR (qNMR): Birincil Analiz Yöntemi

2015–2025 döneminde qNMR, uluslararası metroloji enstitüleri ve ISO standartları tarafından **birincil analiz yöntemi** olarak kabul edilmiştir.

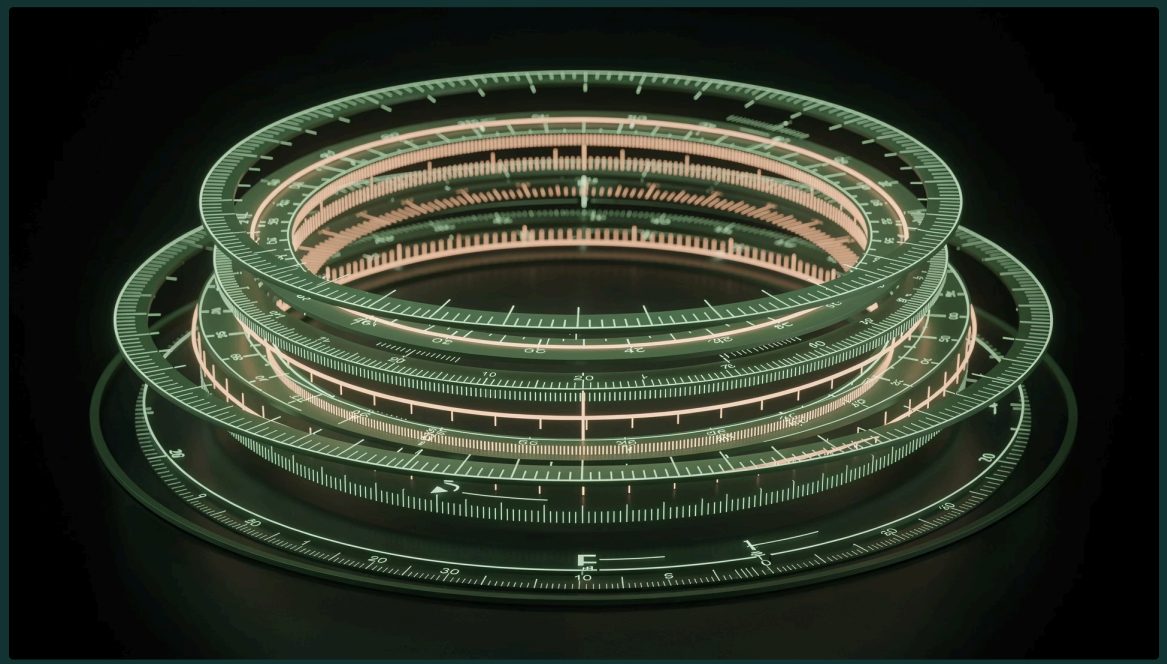
Evrensel Dedektör Özelliği

Kromatografik yöntemlerin aksine, saflığı bilinen herhangi bir proton içeren iç standart (Internal Standard), numunedeki tüm bileşenlerin miktarını tayin etmek için yeterlidir

Vazgeçilmez Uygulama Alanı

Özellikle referans maddesi bulunmayan yeni doğal ürünlerin ve sentetik ilaç safsızlıklarının analizinde vazgeçilmez konuma gelmiştir

qNMR'da Hassasiyet Parametreleri



%1 ve altı belirsizlikle sonuç alabilmek için deneysel parametrelerin optimize edilmesi zorunludur.

Bekleme Süresi (D1)

T1 relaksasyon süresinin en az 5-7 katı kadar bekleme süresi uygulanmalıdır; aksi hâlde manyetizasyon tam dengeye ulaşmaz ve entegrasyon hatalı olur

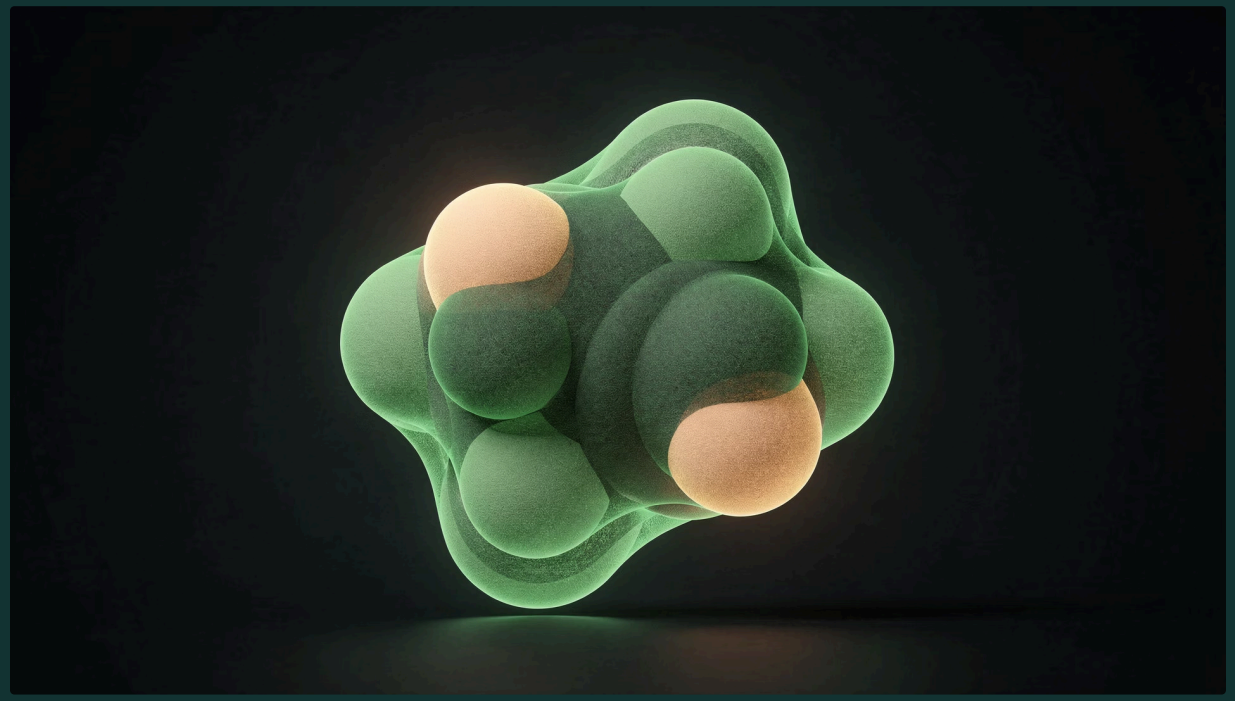
^{13}C Uydu Sinyalleri

^{13}C uydu sinyallerinin ana sinyale olan katkısı (%1.1) hesaba katılmalı ya da ^{13}C dekuplajı ile bu uydular kaldırılmalıdır

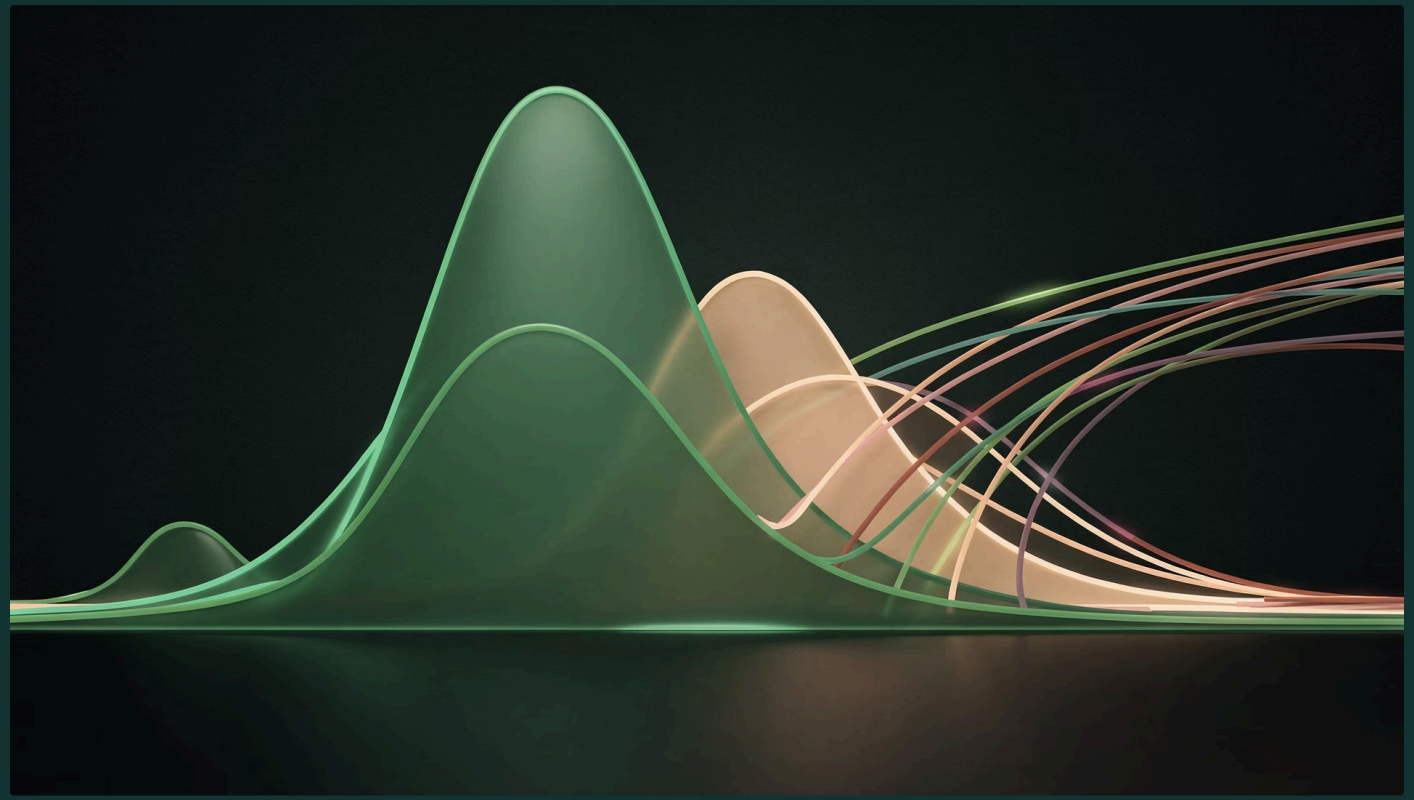
Hesaplamalı NMR: DFT ve Ab Initio Yöntemler

Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) ve ab initio yöntemler kullanılarak bir molekülün NMR spektrumu bilgisayar ortamında hesaplanabilmektedir.

- Karmaşık doğal ürünlerin stereoizomerlerini ayırt etmede deneysel kimyasal kaymalar ile DFT hesaplamalarının karşılaştırılması (DP4+ analizi) yapının kesin tayinine olanak tanır
- 2017'de ACS'de yayımlanan kapsamlı bir çalışmada LC-TPSSTPSS fonksiyoneli ve cc-pVTZ baz seti kullanılarak elde edilen hesaplamaların deneysel verilerle mükemmel uyum sağladığı rapor edilmiştir



Tam Spin Analizi (QMSA)



Geleneksel "pik toplama" yönteminin ötesinde, tüm spektrumun kuantum mekaniksel olarak simüle edilip deneysel spektrumla örtüştürülmesi (**fitting**) yaklaşımı geliştirilmiştir.

Sinyal Ayrıştırma

Üst üste binen sinyaller matematiksel olarak ayrıştırılır

Yüksek Doğruluk

Kimyasal kayma değerleri ve J sabitleri çok yüksek doğrulukla elde edilir

Yapay Zeka Entegrasyonu: Spektrum Tahmini

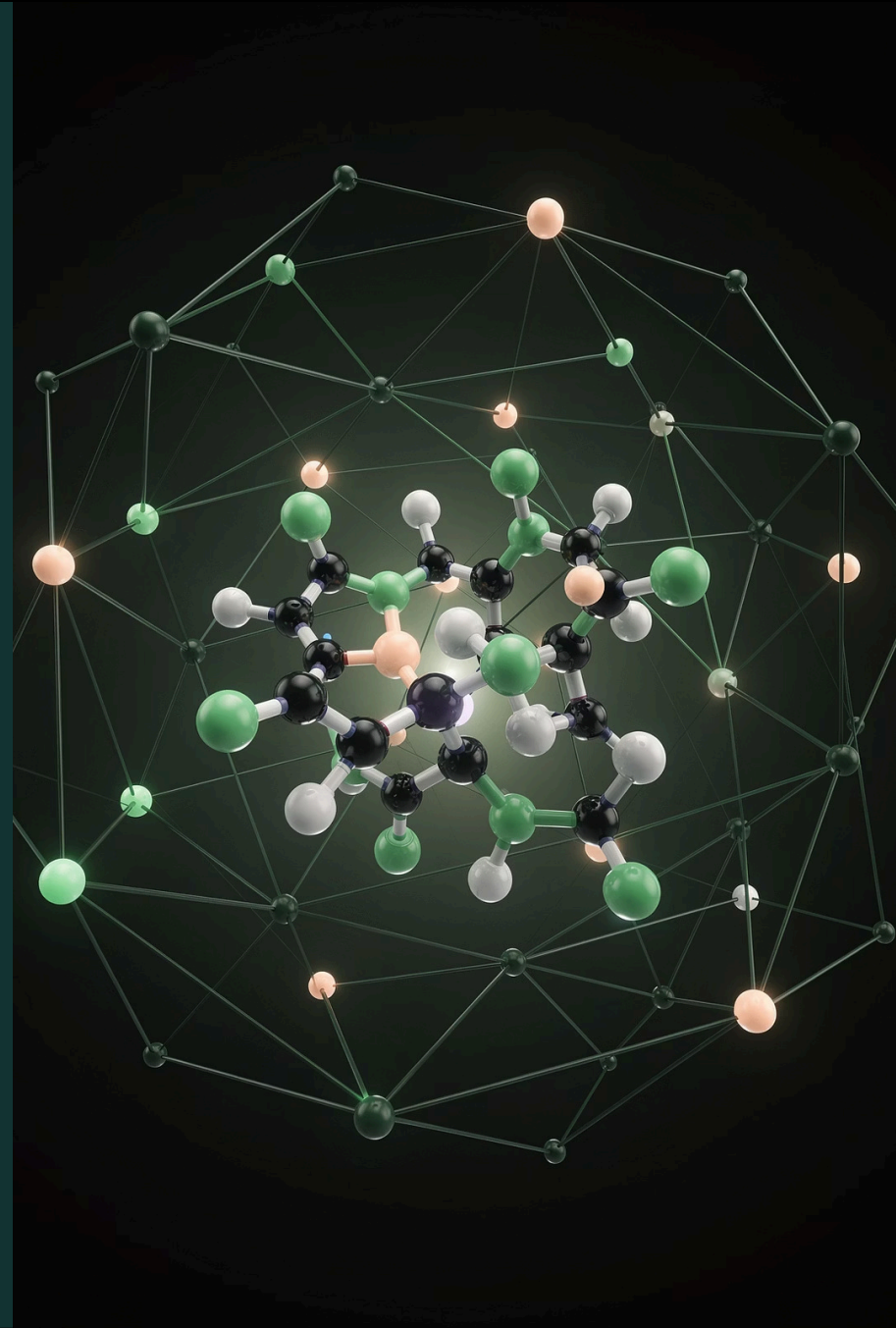
Grafik Sinir Ağları (GNN), 3D moleküler yapıların atomik özelliklerini girdi olarak alarak kimyasal kayma değerlerini 0.2 ppm'den daha düşük hata payıyla tahmin edebilmektedir.

Çözücü ve Esneklik

Çözücü etkileri ve moleküler esneklik hesaba katılarak deneysel veriye çok yakın sentetik spektrumlar üretilebilmektedir

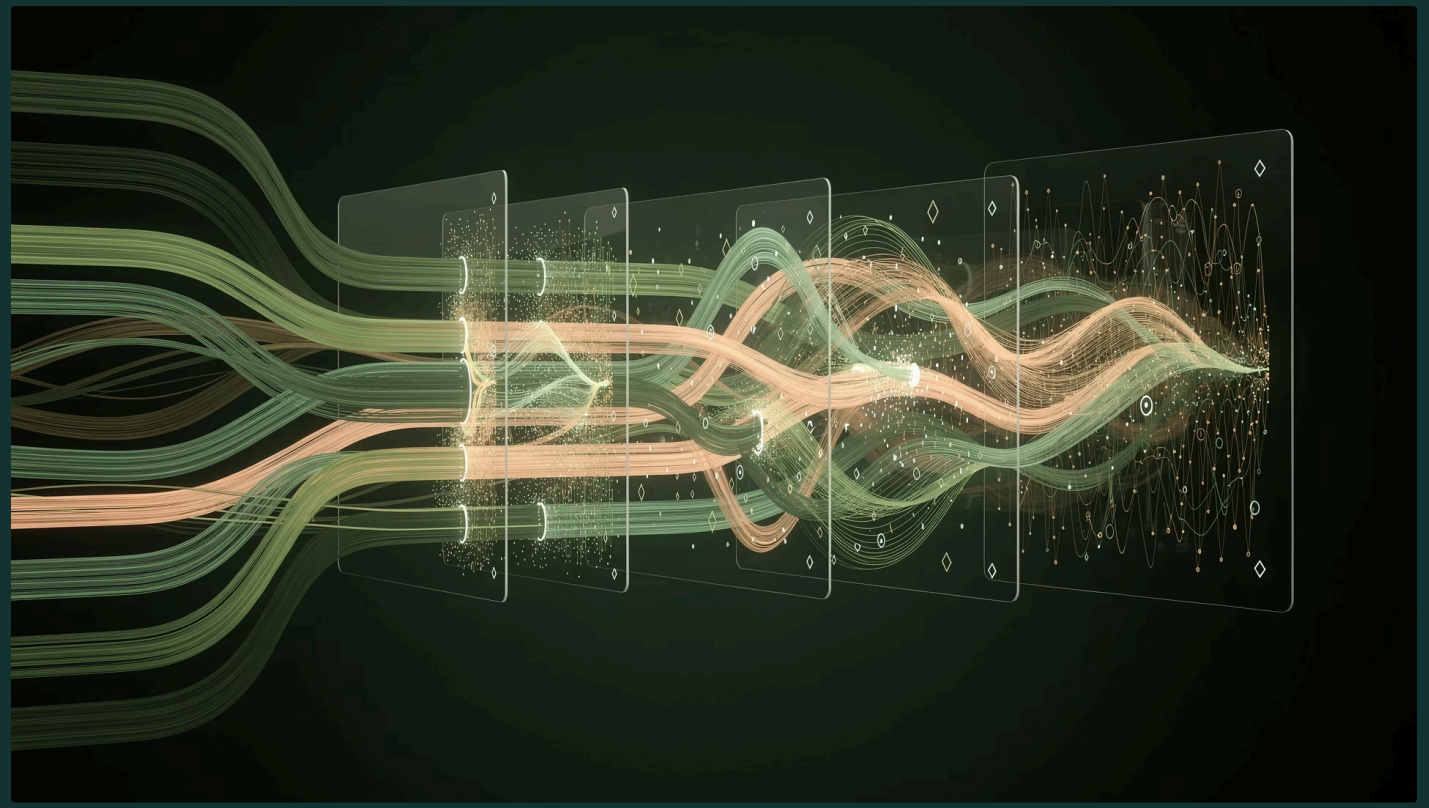
Hız ve Doğruluk

Bu modeller, insan uzmanlığını aşan hız ve doğruluk sunmaktadır



Yapay Zeka Entegrasyonu: Karışım Analizi

Karmaşık biyolojik numunelerde (metabolomik) yüzlerce metabolitin sinyalleri üst üste biner; bu deseni çözmek geleneksel yöntemlerle son derece güçtür.



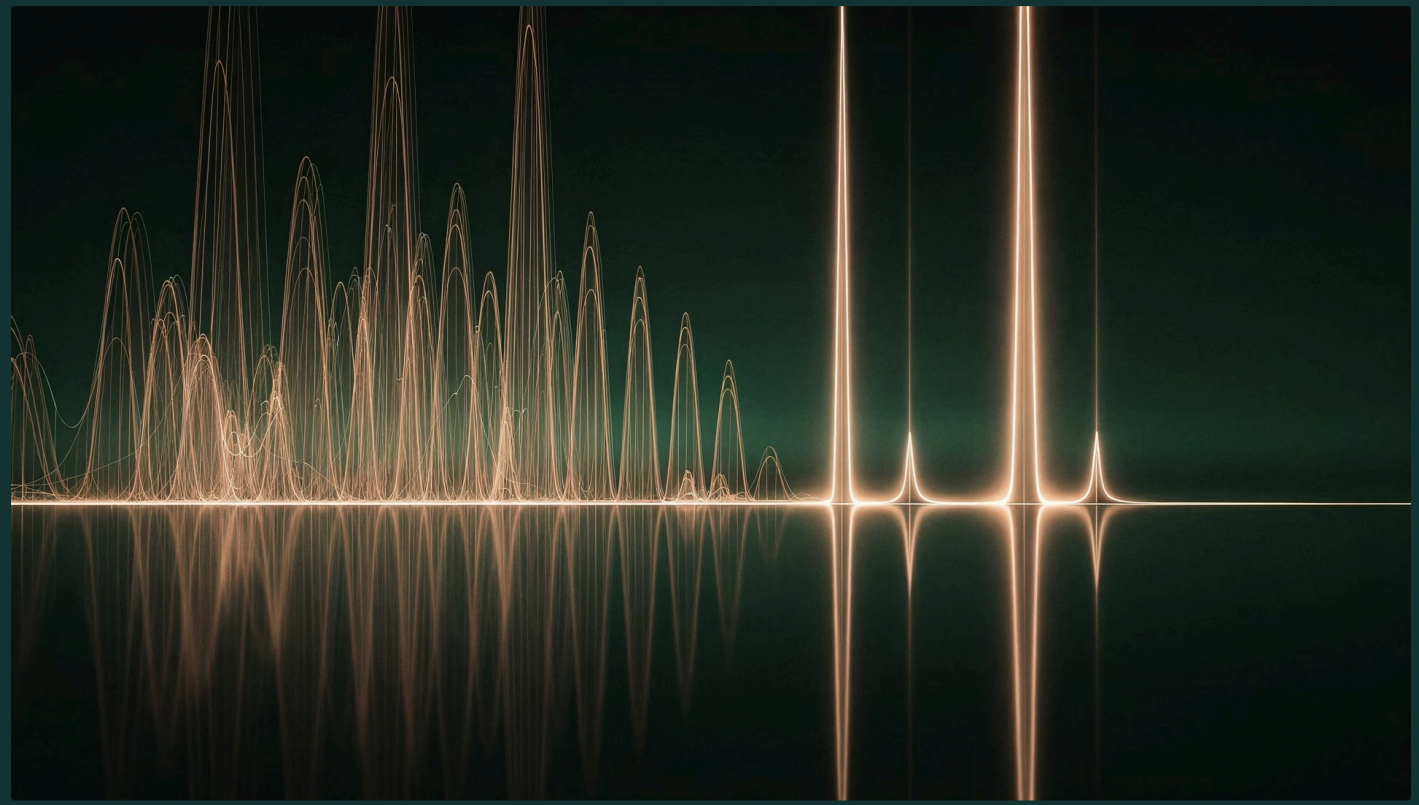
CNN ile Desen Çözme

Konvolüsyonel Sinir Ağları (CNN) bu karmaşık desenleri çözerek bileşenlerin tanımlanmasını ve miktarlandırılmasını sağlar

DeepMID Algoritması

"DeepMID" algoritması, gıda aromalarındaki bitki özlerini NMR spektrumları üzerinden %99'a varan doğrulukla sınıflandırabilmektedir

Enstrümantal Yenilikler: Pure Shift NMR



Homonükleer J-eşleşmelerini (proton-proton etkileşimlerini) veri alımı sırasında baskılayan özel darbe dizileri (pulse sequences) geliştirilmiştir.

Spektrum Sadeleştirme

Tüm multipletler (ikili, üçlü pikler) tekli pike (singlet) indirgenerek spektrum sadeleştirilir

Yüksek Çözünürlük

Sinyallerin üst üste binmesi engellenir; daha düşük manyetik alanlarda bile yüksek çözünürlüklü analiz mümkün hâle gelir

Enstrümantal Yenilikler: Masaüstü (Benchtop) NMR

Süperiletken mıknatıslar yerine kalıcı mıknatıslar kullanan kompakt masaüstü NMR cihazları (40-80 MHz) yaygınlaşmıştır.

- Reaksiyon takibi, gıda kalite kontrolü ve eğitim amaçlı kullanım için laboratuvar tezgahlarında konumlandırılabilir
- Gelişmiş şimleme (shimming) algoritmaları ve sıcaklık kontrolü sayesinde şaşırtıcı derecede stabil ve tekrarlanabilir sonuçlar verir

NMR ile Diğer Spektroskopik Yöntemlerin Karşılaştırması

Özellik	^{1}H NMR	Kütle Spektrometrisi (MS)	IR Spektroskopisi
Temel prensip	Çekirdek spin rezonansı	İyonların m/z'ye göre ayrılması	Bağ titreşim frekansları
Bilgi türü	Atomik bağlantılar, stereokimya, elektronik ortam	Molekül ağırlığı, parçalanma desenleri	Fonksiyonel grup varlığı
Kantitatif analiz	Mükemmel (doğrudan orantılı integral)	Değişken (standart gerekir)	Genellikle yarı-kantitatif
Örnek gereksinimi	Tahribatsız	Tahribatlı	Tahribatsız veya az tahribatlı
Zayıf yönü	Düşük duyarlılık, yüksek maliyet	Yapısal izomerleri ayırt etmek zordur	Tam yapı iskeleti vermez

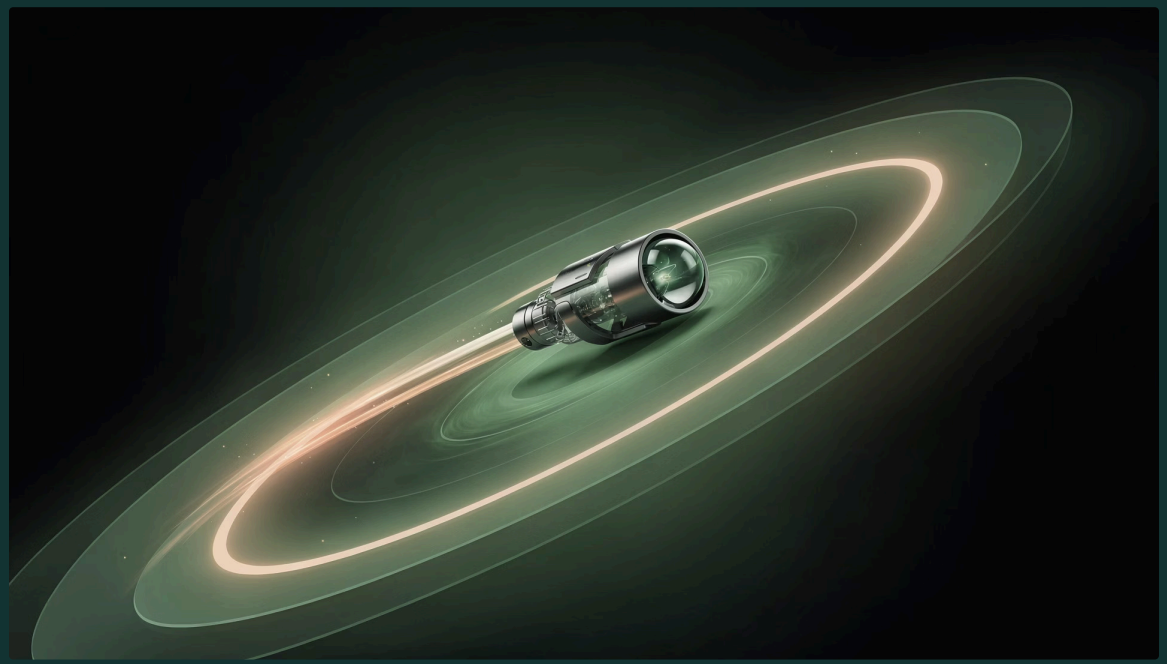
Yasalar Fail Değildir: Ontolojik Not

Spektrumdaki sinyaller, maddenin rastgele bir karmaşa değil; öngörülebilir, ölçülebilir ve matematiksel bir düzen içinde işlediğini kanıtlar. Ancak bu noktada kritik bir ayrım zorunludur.

Termodinamik yasalar, bir molekülün en kararlı konformasyona "sevk edilmesini" tarif eder; fakat bu yasalar o sevki gerçekleştiren güç değildir. Trafik kuralları arabayı nasıl sürmüyorsa, doğa kanunları da molekülleri "sürmez"; yalnızca işleyişin tarifidir.

> Yasalar (doğa kanunları), olayların nasıl olduğunu betimler; bu kanunları koyan ve sistemi o kanuniyete göre işleten İrade'yi gizlemez — aksine görünür kılar.

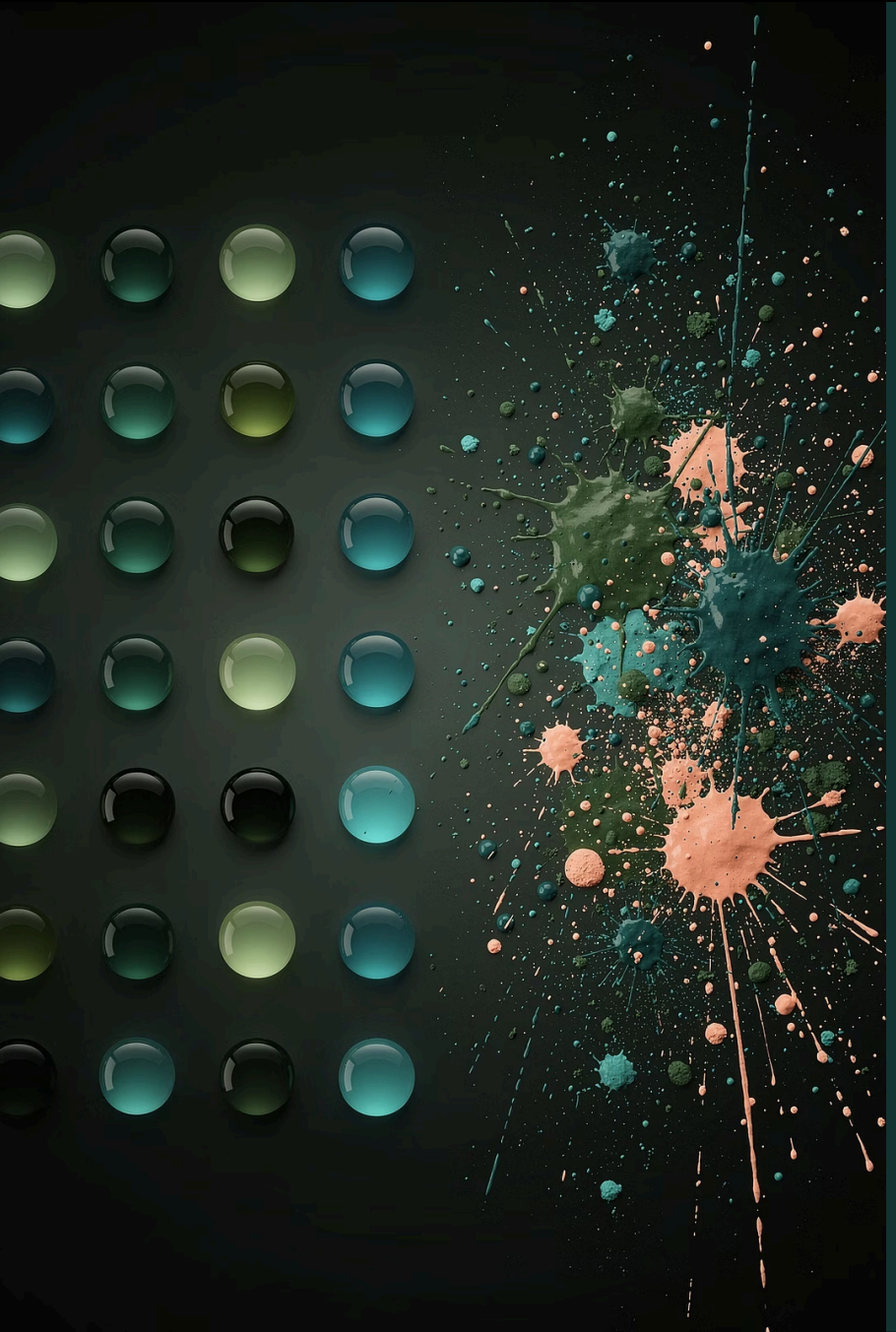
Elektronlar Fail Değil, Araçtır



Ders kitaplarında "elektronlar çekirdeği kalkanlar/korur" ifadesi sıkça kullanılır. Oysa elektronlar, şuursuz parçacıklardır; üzerlerine etkiyen fiziksel yasalara (manyetik kuvvetlere) maruz kalarak hareket ederler.

- Bu hareketin sonucunda bir manyetik alanın indüklenmesi ve bu alanın dış alanı zayıflatması, elektronun "başarısı" değil; sisteme konulmuş olan yasanın (Lenz yasası) bir sonucudur
- Elektron bu süreçte fail değil, bir araç konumundadır

> Gerçek faili gizleyen dil, bilimsel açıklamayı eksik bırakır. Elektronun hareketini de, o hareketi yönlendiren yasayı da koyan, onların ötesinde bir İlim ve Kudret sahibidir.



Hammadde ile Sanat Arasındaki Fark

Evrendeki tüm protonlar birbirinin aynısıdır; bir su molekülündeki proton ile şifalı bir ilaçtaki proton arasında kütle, yük ve spin açısından hiçbir fark yoktur. Hammadde tek tiptir, basittir.

Ancak bu özdeş protonlar belirli bir plan dahilinde bir araya getirildiğinde, birbirinden tamamen farklı özelliklere sahip moleküller ortaya çıkar. NMR spektrumu bu farkı "okumamızı" sağlar.

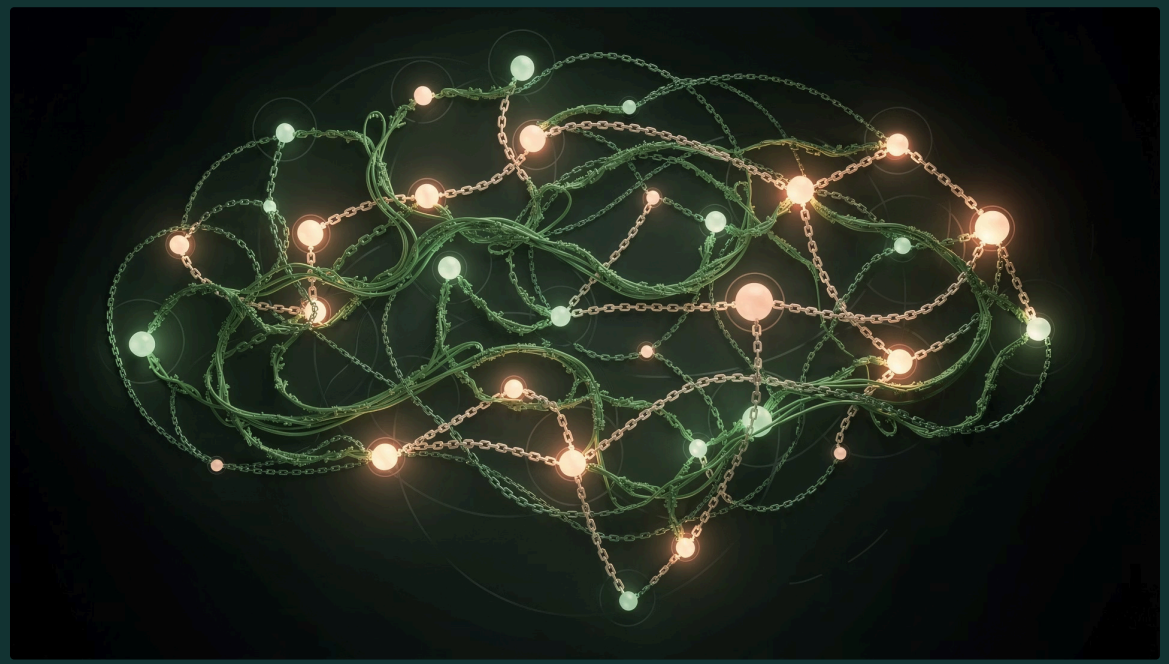
> Protonlar mürekkep gibidir; mürekkep her yerde aynıdır. Ancak bu mürekkeple rastgele leke de oluşturulabilir, anlamlı ve kafiyeli bir şiir de yazılabilir. Bir NMR spektrumu, molekülün "şiirini" okumaktır; bu şiirin bir Yazarı olmak zorundadır.

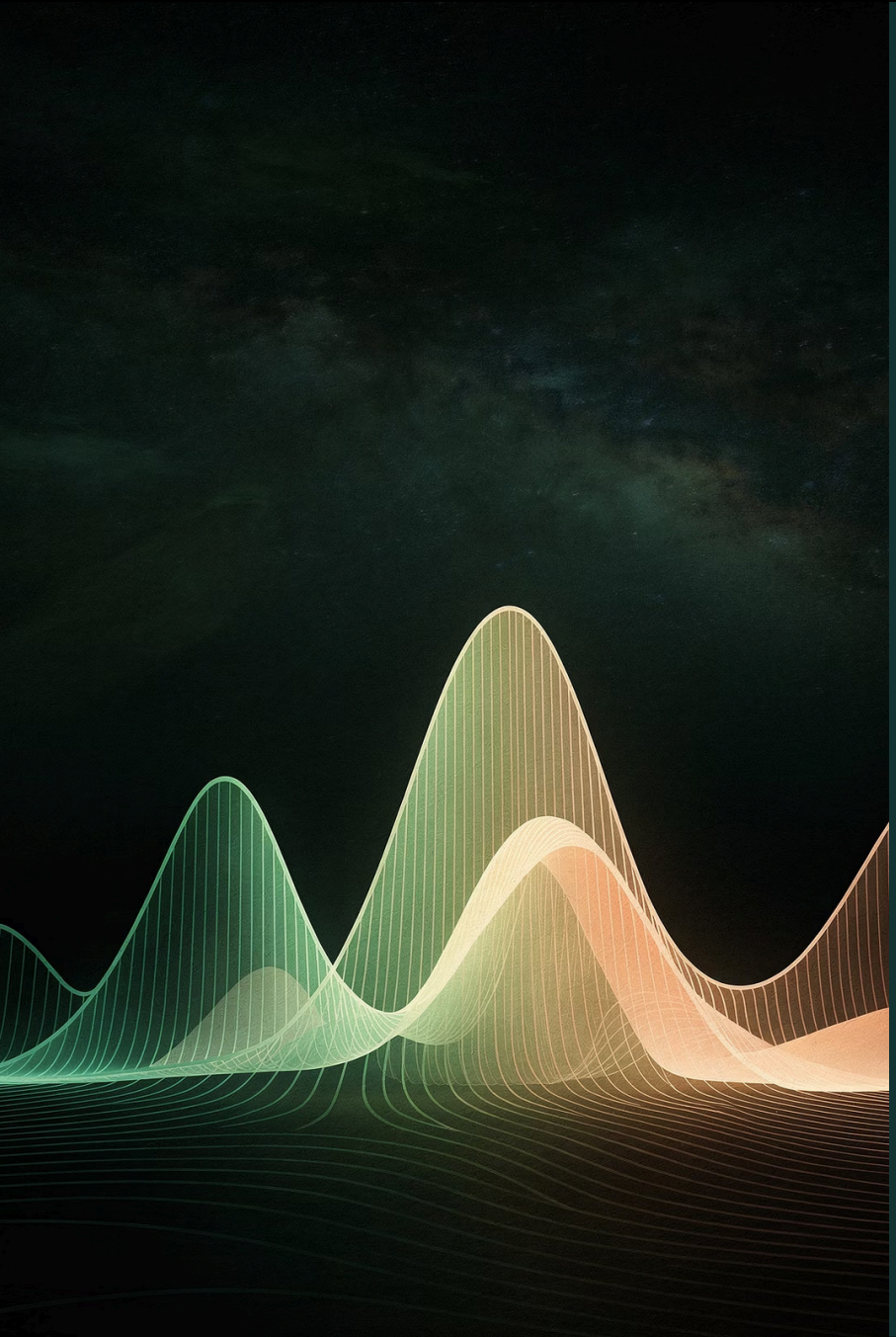
Bağlantısallık ve Bütünlük: J-Eşleşmesinin Felsefi Boyutu

J-eşleşmesi fenomeni, molekülün hiçbir parçasının diğerinden bağımsız olmadığını gösterir.

- Bir uçtaki protonun spin durumu, bağlar zinciri üzerinden diğer uca iletilir
- Molekül, "parçaların toplamından fazla" bir bütündür; parçalar bu bütünün amacı doğrultusunda birbirine bağlanmış ve tertip edilmiştir

> Kör ve şuursuz atomların, kendilerinde bulunmayan özelliklere (koku, tat, biyolojik aktivite) sahip kompleks bir bütünü oluşturması; bu tertip ve bağlantısallığın ardında bir İlim ve İradenin varlığına işaret eder.





Sentez: Spektrumdan Varoluşa

^{1}H NMR spektroskopisi, maddenin yapısını dört temel sinyal özelliği üzerinden okur: kimyasal kayma (elektronik ortam), entegrasyon (stokiyometri), yarılma deseni (bağlantısallık) ve J sabiti (konformasyon).

Artan Hassasiyet

qNMR, yapay zeka algoritmaları ve kuantum kimyasal hesaplamalar bu okumanın hassasiyetini artırmış; maddenin "dili" daha net anlaşılır hâle gelmiştir

Sonsuz Çeşitlilik

Özdeş yapı taşlarından (protonlardan) sonsuz çeşitlilikte sanatlı moleküller oluşturulması, hammaddenin ötesinde bir İlim ve İradenin varlığına işaret eder

> Bilim "nasıl" sorusuna cevap vererek mekanizmayı tasvir eder; bu mekanizmanın neden ve kim tarafından kurulduğu ise tefekkürün sahasıdır.